

**STUDI BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum* PENGHASIL ENZIM
ALGINAT LYASE DARI PERAIRAN LAMPUNG: PENAPISAN,
KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI**

(Tesis)

Oleh

**YESICA BELLA SAFITRI
NPM 2120041004**



**PROGRAM STUDI MAGISTER MANAJEMEN WILAYAH PESISIR DAN LAUT
PASCASARJANA
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

STUDI BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum* PENGHASIL ENZIM ALGINAT LYASE DARI PERAIRAN LAMPUNG: PENAPISAN, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI

Oleh:

Yesica Bella Safitri

Alginat merupakan polisakarida dari alga cokelat yang banyak dimanfaatkan untuk antitumor, antiinflamasi, dan juga antivirus. Alginat memiliki berat molekul yang besar yang membuatnya sulit dicerna oleh beberapa organisme. Oleh karena itu, penting untuk mencari enzim alginat lyase untuk memotong alginat secara enzimatis. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan isolat bakteri yang menghasilkan enzim alginat lyase dari *Sargassum polycystum*. Pengumpulan data dilakukan dengan mengisolasi bakteri dari rumput laut *Sargassum polycystum* dari Pantai Sebalang. Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran dan sebar. Koloni yang didapat dimurnikan dan diseleksi dengan menggunakan uji aktivitas alginat lyase berdasarkan waktu inkubasi dan diidentifikasi secara morfologi, biokimia dan molekuler menggunakan gen 16S-rDNA. Analisis data dilakukan secara deskriptif. Pada penelitian ini diperoleh 20 isolat bakteri simbiosis *Sargassum polycystum* dan empat isolat mempunyai aktivitas alginat lyase. Bakteri dengan aktivitas alginat lyase tertinggi diidentifikasi sebagai *Cytobacillus kochii* dengan kemiripan 99% dan bakteri *Bacillus cereus* dengan kemiripan 99%. Perlu penelitian optimasi kultur bakteri, produksi, dan aktivitas alginat lyase untuk mendapatkan hasil yang optimal diantaranya waktu inkubasi aktivitas alginat lyase yang tinggi adalah 48 sampai 72 jam.

Kata kunci: Aktivitas alginat lyase, Alginat, *Bacillus cereus*, *Cytobacillus kochii*, Enzim Alginat Lyase,

ABSTRACT

STUDY OF SYMBIOTIC BACTERIA *Sargassum polycystum* PRODUCING ALGINATE LYASE ENZYME FROM LAMPUNG WATERS: SCREENING, CHARACTERIZATION AND IDENTIFICATION

By

YESICA BELLA SAFITRI

Alginate is a polysaccharide from brown algae which is widely used for antitumor, anti-inflammatory and antiviral properties. Alginate has a large molecular weight which makes it difficult for some organisms to digest it. Therefore, it is essential to look for alginate lyase enzymes to cleave alginate enzymatically. This study aimed to obtain bacterial isolates that produce alginate lyase enzymes from *Sargassum polycystum*. Data collection was carried out by isolating bacteria from *Sargassum polycystum* seaweed. from Sebalang Beach. Isolation was carried out using the dilution and scatter method. Colonies obtained were purified and selected using alginate lyase activity assay based on incubation time and identified morphologically, biochemically and molecularly using the 16S-rDNA gene. Data analysis was carried out descriptively. In this study, 20 isolates of the symbiont bacteria *Sargassum polycystum* were obtained and four isolates had alginate lyase activity. Bacteria with the highest alginate lyase activity were identified as *Cytobacillus kochii* with 99% similarity and *Bacillus cereus* bacteria with 99% similarity. Research is needed to optimize bacterial culture, production, and alginate lyase activity to obtain optimal results, including the optimal incubation time to obtain high alginate lyase activity which is 48 to 72 hours.

Keyword: Alginate, Alginate Lyase Activity, Alginate Lyase Enzyme, *Bacillus cereus*, *Cytobacillus kochii*,

**STUDI BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum* PENGHASIL ENZIM
ALGINAT LYASE DARI PERAIRAN LAMPUNG: PENAPISAN,
KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI**

Oleh

YESICA BELLA SAFITRI

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS**

Pada

**Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut
Pascasarjana Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI MAGISTER MANAJEMEN WILAYAH PESISIR DAN LAUT
PASCASARJANA
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Tesis : **STUDI BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum* PENGHASIL ENZIM ALGINAT LYASE DARI PERAIRAN LAMPUNG: PENAPISAN, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI**

Nama Mahasiswa : Yesica Bella Safitri

Nomor Pokok Mahasiswa : 2120041004

Jurusan/ Program Studi : Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut

Fakultas : Pascasarjana Multidisiplin



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.
NIP.198408052009121003

Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si
NIP. 197707132009122002

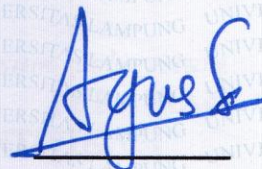
2. Ketua Program Studi Manajemen Wilayah Pesisir Dan Laut
Universitas Lampung

Dr. Supono, S.Pi., M.Si.
NIP. 197010022005011002

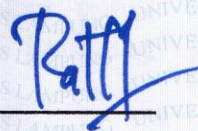
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

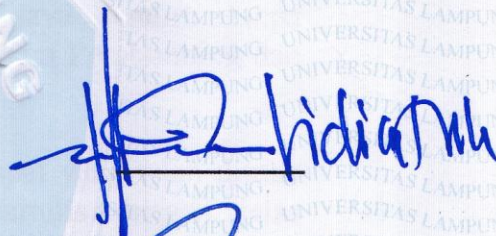
Ketua : Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.



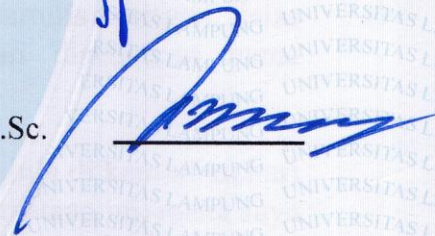
Sekretaris : Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.



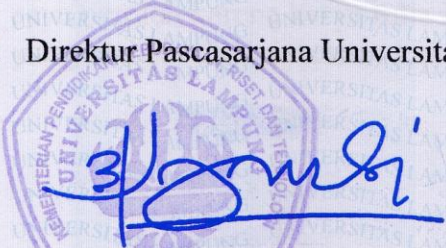
Penguji
Bukan Pembimbing : Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.



Anggota : Dr. Gregorius Nugroho Susanto, M.Sc.



2. Direktur Pascasarjana Universitas Lampung



Prof. Dr. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP. 197104151998031005

Tanggal Lulus Ujian Tesis : 1 Februari 2023

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahawa:

1. Tesis dengan judul: **“STUDI BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum* PENGHASIL ENZIM ALGINAT LYASE DARI PERAIRAN LAMPUNG: PENAPISAN, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI”** adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya, saya bersedia dan sanggup dituntut sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 01 Februari 2023
Yang membuat pernyataan,



YESICA BELLA SAFITRI
NPM 2120041004

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 30 Oktober 1998 sebagai anak Pertama dari tiga bersaudara pasangan Bapak A.Wahyudi dengan Ibu Evi Yanti. Penulis memulai pendidikan formal dari Taman Kanak-kanak (TK) Bina Balita Lampung yang diselesaikan pada tahun 2004, dilanjutkan ke Sekolah Dasar Negeri 02 Campang Raya diselesaikan pada tahun 2010, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 31 Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2013, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 12 Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2016.

Penulis melanjutkan pendidikan kejenjang S1 di Jurusan Perikanan dan Kelautan Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian (FP) Universitas Lampung melalui Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2016 dan menyelesaikan studinya pada tahun 2020. Pada tahun 2021 penulis melanjutkan pendidikan Magister (S2) pada Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut, Universitas Lampung melalui beasiswa *Research And Teaching Assistant* program magister

Pada tahun 2023 untuk mencapai gelar Magister Sains (M.Si.), penulis melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tugas akhir dalam bentuk tesis di Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dengan judul **“STUDI BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum* PENGHASIL ENZIM ALGINAT LYASE DARI PERAIRAN LAMPUNG: PENAPISAN, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI”**

PERSEMBAHAN

“Puji Syukur kehadiran Allah SWT.”

Atas rahmat dan hidayahnya saya dapat menyelesaikan tesis ini

Saya persembahkan perjuangan saya ini kepada orang tua saya tercinta

“ Bapak K.H. Armin Ma’ruf dan Ibu Evi Yanti”

Terimakasih banyak atas dukungan, kasih sayang, dan untaian doa yang tiada henti
kalian berikan kepada saya.

Almamater tercinta “Universitas Lampung”

SANWACANA

Alhamdulillah, segala puji syukur bagi Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Studi Bakteri Symbion *Sargassum polycystum* Penghasil Enzim Alginat Lyase Dari Perairan Lampung: Penapisan, Karakterisasi dan Identifikasi” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada orang tua atas doa, cinta kasih, dan dukungan moril maupun materil serta kepada seluruh pihak yang telah banyak membantu dan mendukung dalam pelaksanaan dan penyelesaian Tesis, yaitu kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Bapak Prof. Dr. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T. selaku Direktur Pascasarjana, Universitas Lampung
3. Bapak Dr. Supono, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Indra Gumay Febryano, S.Hut., M.Si. selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah membantu penulis selama masa perkuliahan serta ketika penulis menghadapi masalah dibidang akademik.
5. Bapak Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku dosen Pembimbing Utama yang telah membantu penulis selama masa perkuliahan serta ketika penulis menghadapi masalah dan menunjukkan kesalahan penulis serta memberikan saran terbaik, sehingga penulis dapat menyempurnakan tesis dengan optimal

6. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si selaku dosen Pembimbing Dua yang menunjukkan kesalahan penulis serta memberikan saran terbaik, sehingga penulis dapat menyempurnakan tesis dengan optimal.
7. Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph.D selaku dosen Penguji yang telah memberikan saran terbaik dan pengetahuan yang lebih dalam pelaksanaan penelitian.
8. Bapak Dr. Gregorius Nugroho Susanto, M.Sc selaku dosen Penguji yang telah memberikan saran terbaik dan pengetahuan yang lebih dalam pelaksanaan penelitian
9. Seluruh dosen dan karyawan Pascasarjana khususnya Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut Universitas Lampung.
10. Keluarga tercinta: Ibu, papa serta kakak-kakak dan adik-adik yang telah memberikan motivasi serta dukungan dalam proses penelitian.
11. Mb Dwi dan Mb Tari yang telah membantu saya selama penelitian ini di laboratorium perikanan dan pertanian.
12. Teman-teman MWPL Yuna, Ses Rizka, CeuCeu, Bang Bay, Sahda, Ainun, Pak bangkit dan Darmawan untuk canda tawa dan pertemanan yang indah selama perkuliahan yang diberikan kepada penulis.
13. Sahabatku Rikka, mei, dan dinat untuk pertemanan yang indah yang diberikan kepada penulis.
14. Kepada NPM 1614111057 yang telah kebersamai penulis pada hari-hari yang tidak mudah selama proses pengerjaan Tesis. Terimakasih telah menjadi rumah yang tidak hanya berupa tanah dan bangunan. Tetap kebersamai dan tetap tabah sampai akhir.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Namun penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, Februari 2023
Penulis

Yesica Bella Safitri

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Rumput Laut <i>Sargassum polycystum</i>	6
2.2 Alginat	7
2.3 Enzim Alginat Lyase	8
2.4 Bakteri Pendegradasi Alginat	9
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Prosedur Penelitian.....	13
3.3.1 Koleksi Rumput Laut	13

3.3.2 Ekstraksi Alginat	13
3.3.3 <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR)	15
3.3.4 Isolasi Bakteri Simbion pada <i>Sargassum polycystum</i>	15
3.3.5 Uji Aktivitas Enzim Alginat Lyase	16
4.1.5.1 Kualitatif	16
4.1.5.2 Semi Kualitatif	16
4.1.4.3 Kuantitatif	17
3.3.6 Identifikasi Bakteri Simbion Penghasil Alginat Lyase	19
3.3.6.1 Morfologi	19
3.3.6.2 Biokimia	19
3.3.7 Skuensing Gen Analisis Filogenetik	20
3.4 Analisis Data	21
3.5 Diagram Alir	22

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....

4.1. Hasil Penelitian	23
4.1.1 <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR).....	23
4.1.2 Isolasi Bakteri Simbion <i>Sargassum polycystum</i>	24
4.1.3 Uji Aktivitas Alginat Lyase.	25
4.1.3.1 Uji Aktivitas Alginat Lyase Secara Kualitatif.	25
4.1.3.2 Uji Aktivitas Alginat Lyase Secara Semi Kuantitatif.....	26
4.1.3.3 Uji Aktivitas Alginat Lyase Secara Kuantitatif	27
4.1.3.4 Kadar Protein Alginat Lyase.....	29
4.1.3.5 Aktivitas Spesifik Alginat Lyase	31
4.1.4 Identifikasi Bakteri Mengandung Alginat Lyase.	33
4.1.4.1 Identifikasi Secara Morfologi	33
4.1.4.2 Identifikasi Secara Biokimia	34
4.1.4.3 Identifikasi Secara Molekuler 16S rDNA	36
4.2. Pembahasan.....	38

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan.....	44
-------------------	----

5.2 Saran44

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran	4
2. <i>Sargassum polycystum</i>	6
3. Struktur Kimia Alginat	8
4. Struktur Kimia Enzim Alginat Lyase	9
5. Diagram Alir Ekstraksi Natrium Alginat <i>Sargassum polycystum</i>	14
6. Diagram Alir Penelitian	22
7. Hasil Uji FTIR Natrium Alginat	23
8. Gambar Koloni Murni Bakteri Yang Telah Berhasil di Isolasi dari Rumpun Laut <i>Sargassum polycystum</i>	24
9. Isolat Bakteri dari Hasil Isolasi <i>Sargassum polycystum</i> yang menunjukkan aktivitas alginat lyase	25
10. Hasil Uji Semi Kuantitatif	27
11. Kurva Standar D-Mannosa	28
12. Aktivitas Alginat Lyase Kuantitatif pada Waktu Inkubasi yang Berbeda	28
13. Kurva Standar BSA (<i>Bovine Serum Albumin</i>)	29
14. Hubungan Antar Waktu Inkubasi Dan Kadar Protein	30
15. Hubungan Antar Waktu Inkubasi Dan Aktivitas Spesifik	32
16. Hasil Uji Gram Isolat Bakteri Penghasil Alginat Lyase KOH 3%	35
17. Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Penghasil Alginat Lyase H ₂ O ₂ 3%	35
18. Hasil Uji Oksidasi Fermentatif Isolat Bakteri Penghasil Alginat Lyase Menggunakan Media OF	36
19. Pohon Filogenetik isolat GSD	37
20. Pohon Filogenetik isolat PTH	37
21. Pohon Filogenetik isolat PTF	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat penelitian.....	11
2. Bahan-bahan penelitian	12
3. Jumlah Isolat Yang Tumbuh	25
4. Hasil Pengukuran Indeks Alginolitik Isolat Penghasil Alginat Lyase.....	26
5. Hasil Uji Morfologi Bakteri Penghasil Alginat Lyase	33
6. Hasil Uji Biokimia Bakteri Penghasil Alginat Lyase	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Ekstraksi Natrium Alginat	55
2. Isolasi Bakteri Simbion Metode Pengenceran dari <i>Sargassum Polycystum</i>	56
3. Hasil Perhitungan Aktivitas Alginat Lyase	58
4. Analisis Data Aktivitas Alginat Lyase	64
5. Hasil identifikasi bakteri secara molekuler PCR 16S sRNA.....	75
6. Hasil blast bakteri isolat GSD, PTH dan PTF	76

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara dengan garis pantai sepanjang 81.000 km serta luas perairan 5.800.000 km yang sering disebut juga sebagai negara maritim. Perairan Indonesia terdapat sumber daya baik hayati maupun non hayati (KKP, 2019). Sebagai salah satu potensi yang dimiliki adalah sumber daya hayati yakni komoditas rumput laut dengan luas mencapai 384,73 Ha (Kementerian Perdagangan, 2013). Budidaya rumput laut di Indonesia didominasi oleh *Euchema* dan genus *Gracilaria*, sedangkan genus *Sargassum* tumbuh liar di pantai. *Sargassum* tersebar di seluruh dunia dengan 400 spesies yang mana 50 spesies ditemukan di Indonesia dan diantaranya tumbuh di perairan Lampung (Herawati dan Pudjiastuti 2021; Handayani, 2017; Ningtias, 2022).

Sargassum polycystum merupakan salah satu jenis alga coklat yang tumbuh di perairan Lampung dan memiliki kandungan alginat (Kamisyah *et al.*, 2020; Kok dan Wong, 2018; Fauzief *et al.*, 2020; Yudiati *et al.*, 2019; Ningtias, 2022) *Sargassum polycystum* dilaporkan memiliki kandungan alginat yang tinggi (Dousip *et al.*, 2014; Widyartini, 2015) dengan harga eceran per kg adalah (\$12 US/kg) (Rhein-Knudsen *et al.*, 2015). Eropa, Amerika Serikat, Jepang dan China merupakan Negara yang mengimpor alginat ke berbagai Negara dengan nilai pasar global diperkirakan US\$ 339 juta/tahun (Bixler dan Porse, 2011). Alginat banyak dimanfaatkan pada berbagai industri, baik industri pangan maupun non pangan (Subaryono, 2010). Alginat digunakan untuk membantu proses pembuatan maupun sebagai pengental, pembentuk gel, stabilizer dan pengemulsi sehingga

banyak digunakan di bidang makanan (Maharani *et al.*, 2018). Alginat juga dapat sebagai anti-tumor (Fernando *et al.*, 2019) antioksidan (Dousip *et al.*, 2014; Soedjati *et al.*, 2018) dan juga antivirus (Ridlo dan Pramesti, 2009) serta imunostimulan (Setyawan *et al.*, 2020; 2021) selain itu alginat bersifat biodegradasi karena dapat menurunkan konsentrasi tembaga secara adsorptif dari dalam air (Pratama *et al.*, 2022) dan ammonia melalui imobilisasi bakteri (Setyawan *et al.*, 2022)

Alginat memiliki kelemahan yaitu berat molekul yang besar yakni 500-1000 kDa sehingga mempengaruhi daya larutnya (Sinurat dan Marliani, 2017). Menurut Subaryono (2010) ukuran molekul pada alginat dapat mempengaruhi dan membatasi pemanfaatan dari alginat hal inilah yang menyebabkan perlu adanya upaya untuk memecah ikatan polimer alginat untuk mendegradasi alginat.

Proses degradasi alginat bertujuan untuk memecah ikatan polimer pada alginat untuk mendapatkan alginat menjadi oligosakarida yang memiliki berat molekul yang lebih rendah (Jangtap *et al.*, 2022). Beberapa cara yang digunakan untuk memecah ikatan polimer pada alginat menjadi berat molekul yang lebih kecil, yaitu metode fisik dengan iridiasi gamma ray (Wasikiewicz *et al.*, 2005), metode kimia dengan menggunakan bahan kimia yakni hidrolisis (Nainggolan *et al.*, 2021) dan metode biologi secara enzimatik oleh enzim alginat lyase (Subaryono, 2019; Wang *et al.*, 2017). Berat molekul pemutusan ikatan polimer yang dihasilkan oleh proses enzimatik lebih seragam dan penggunaan enzim yang spesifik dapat menghindari adanya perubahan struktur dan efek yang tidak diinginkan. (Cheng *et al.*, 2020)

Enzim yang berperan dalam degradasi alginat disebut sebagai enzim alginat lyase yang spesifik berdasarkan jenisnya, yaitu polimanuronat dan poligulunorat (Afni *et al.*, 2017; Marzuki *et al.*, 2021; Kamarudin *et al.*, 2021; Tavafi *et al.*, 2017). Enzim tersebut berperan dalam memotong polimer alginat dengan mekanisme eliminasi-b yaitu dengan pembentukan 4-deoksi-l-erithro-hex-ene-pirosiluronat (Subaryono, 2010). Alginat lyase memiliki manfaat sebagai bahan pembuatan

biofuel, biofertilizer, dan produk pertanian seperti pupuk hayati (Afriansyah *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2016). Terdapat berbagai jenis bakteri penghasil enzim alginat lyase yaitu *Bacillus halosaccharovorans* sLJ-3 (Wang *et al.*, 2017), *Bacillus Megaterium* (Subaryono, 2019), *Streptomyces* (Nguyen *et al.*, 2021) dan *Pseudomonas mendocina* NK01 (Guo *et al.*, 2011). Enzim alginat lyase ini memiliki produk akhir yang berupa alginat oligosakarida (AOS) dengan berbagai manfaat sebagai probiotik, antikoagulan, antioksidan, dan agen antikanker, sebagai pemacu pertumbuhan, dan merupakan bahan alami imunomodulator untuk merangsang peningkatan sistem kekebalan tubuh. (Gibson dan Roberfoid, 1995; Iwamoto *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2011; lee *et al.*, 2012; Subaryono, 2019).

Berdasarkan berbagai uraian diatas, dapat diketahui bahwa potensi rumput laut ini cukup besar karena pertumbuhannya yang cepat dan tersebar hampir di semua Perairan Indonesia karena indonesia memiliki gelombang kuat dan dasar berkarang, namun pemanfaatan rumput laut masih terbatas sehingga perlu adanya pengelolaan wilayah pesisir secara maksimal. Maka dalam penelitian ini dilakukan penapisan (*screening*), karakterisasi dan identifikasi bakteri yang bersimbion dengan *Sargassum polycystum* yang dikoleksi dari perairan Lampung dengan harapan mampu menghasilkan enzim alginat lyase sebagai pendegradasi pada alginat.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. Mengidentifikasi bakteri penghasil enzim alginat lyase sebagai pendegradasi alginat secara morfologi, biokimia, dan molekuler
2. Mengetahui waktu terbaik produksi dan aktivitas enzim alginat lyase dari bakteri yang bersimbion dengan *Sargassum polycystum* yang dikoleksi dari perairan Pantai Sebalang, Tarahan Lampung Selatan

1.3 Manfaat Penelitian

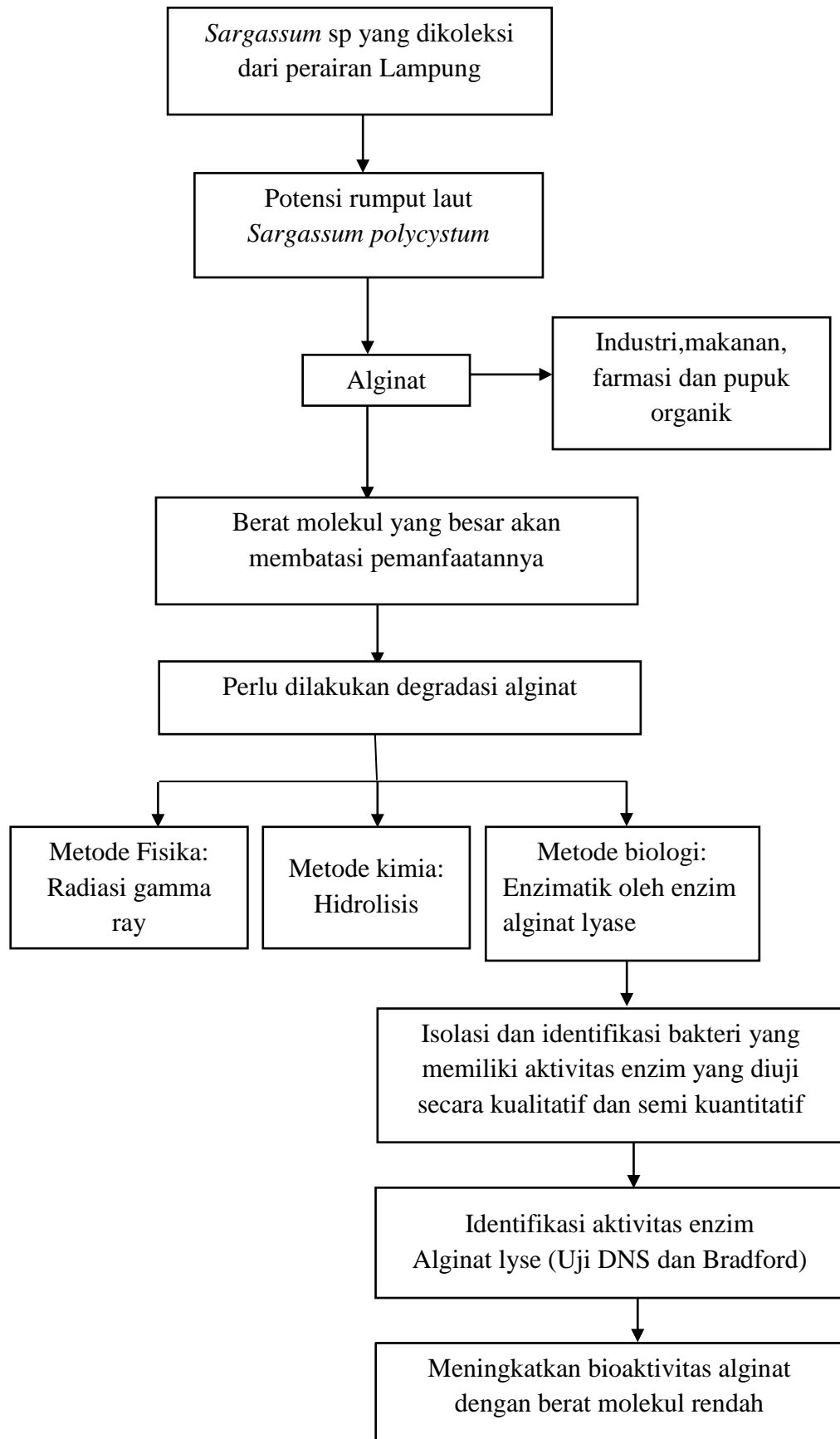
Adapun manfaat penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi terkait pemanfaatan bakteri yang bersimbion dengan *Sargassum polycystum* dapat menghasilkan enzim alginat lyase sebagai pendegradasi alginat.
2. Meningkatkan kesadaran masyarakat pentingnya melakukan pengelolaan wilayah pesisir khususnya di Perairan Pantai Sebalang, Taraharan Lampung Selatan

1.4 Kerangka Pemikiran

Sargassum polycystum merupakan salah satu jenis alga coklat yang tumbuh di perairan Lampung dan memiliki kandungan alginat yang tinggi serta memiliki manfaat sebagai pengental, pembentuk gel, stabilizer dan pengemulsi sehingga banyak digunakan di bidang makanan (Maharani *et al.*, 2018). Namun alginat memiliki kelemahan yaitu berat molekul yang besar, sehingga dapat mempengaruhi dan membatasi pemanfaatan dari alginat maka perlu adanya cara untuk memecah ikatan polimer pada alginat menjadi berat molekul yang lebih kecil, yaitu dengan metode biologi secara enzimatik oleh enzim alginat lyase. Pemecahan ikatan polimer yang dihasilkan oleh proses enzimatik memiliki berat molekul yang lebih seragam dan penggunaan enzim yang spesifik dapat menghindari adanya efek samping yang menyebabkan modifikasi yang tidak diinginkan dari struktur aslinya (Cheng *et al.*, 2020).

Hasil penelitian Subaryono (2017) telah ditemukan bakteri penghasil enzim alginat lyase dari *Sargassum crassifolium* yang diambil perairan Binuangeun, Provinsi Banten adalah isolat S245 yang teridentifikasi sebagai *Bacillus megaterium* sedangkan dalam penelitian lainnya seperti Nguyen *et al.*, 2021 didapatkan jenis *Streptomyces*. Maka perlu dilakukan penelitian bakteri penghasil enzim alginat lyase dari perairan Lampung untuk memaksimalkan pengelolaan wilayah pesisir dan laut dan meningkatkan bioaktivitas alginat dengan berat molekul rendah (Gambar 1)



Gambar 1. Kerangka Pemikiran Penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Laut *Sargassum polycystum*

Sargassum polycystum adalah tanaman yang tumbuh di perairan pantai dan karang penghasil alginofit dengan taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Phaeophyta
Kelas	:	Phaeophyceae
Ordo	:	Fucales
Famili	:	Sargassaceae
Genus	:	Sargassum
Spesies	:	<i>Sargassum polycystum</i>

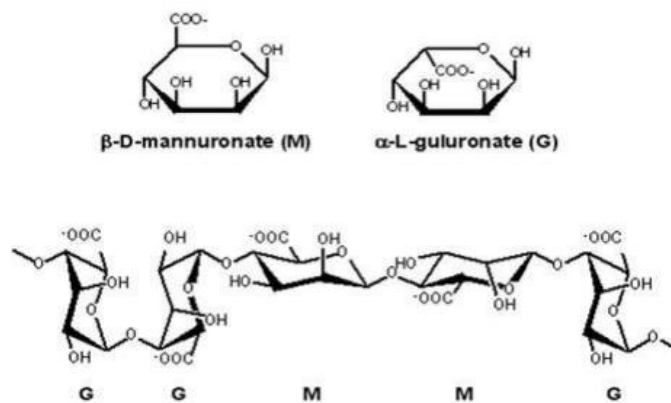


Gambar 2. *Sargassum polycystum* (dokumen pribadi)

Morfologi *Sargassum polycystum* memiliki ciri panjang talus selindris berduri-duri kecil dengan warna coklat kekuningan. Pada umumnya daun *Sargassum polycystum* berbentuk membujur dan runcing serta memiliki blader yang berbentuk bulat dengan ukuran kecil yang jumlahnya cukup banyak karena berfungsi agar thallus dapat terapung permukaan air sehingga mampu mendapatkan intensitas cahaya matahari. Ujung berduri dan membulat, melekat pada talus batang primer atau sekunder, dapat secara bergerombol atau sendiri-sendiri (Widyartini *et al.*, 2015; Pansing *et al.*, 2017). Komponen utama dari *Sargassum polycystum* adalah karbohidrat yakni antara sedangkan komponen lainnya yaitu viskositas, (pH), air dan lemak (Kamisyah *et al.*, 2020) Senyawa aktif yang terdapat dalam *Sargassum polycystum* seperti florotanin (Firdaus *et al.*, 2017; Cahyaningrum *et al.*, 2016), terpenoid (Riwanti *et al.*, 2021), alginat (Fauziee *et al.*, 2020; Kamisyah *et al.*, 2020) dan fukoidan (Setyawan *et al.*, 2018).

2.2 Alginat

Alginat merupakan hidrokoloid yang sangat baik yang telah digunakan untuk berbagai aplikasi industri, termasuk bidang lanjutan, seperti biomedis dan bioengineering (Hutardo *et al.*, 2022). Alginat dapat diperoleh dari ganggang coklat dengan berbagai metode yakni metode asam alginat, kalsium alginat dan natrium alginat dan sumber yang beragam. Ketiga metode tersebut menghasilkan jumlah alginat yang berbeda-beda hal ini dikarenakan bahan yang digunakan juga berbeda. Metode yang sering digunakan adalah metode natrium alginat dengan keunggulan menghasilkan rendemen yang lebih tinggi yakni kisaran 40 % (Laksanawati, 2017; Diharningrum *et al.*, 2018). Dapat dilihat pada Gambar 3 bahwa alginat adalah suatu garam yang mengandung ion barium, ion kalsium dan ion sodium yang terbentuk dari dua monomer asam uronat, yaitu β -D-Asam Manuronat dan α -L-Asam Guluronat (Ode *et al.*, 2014).



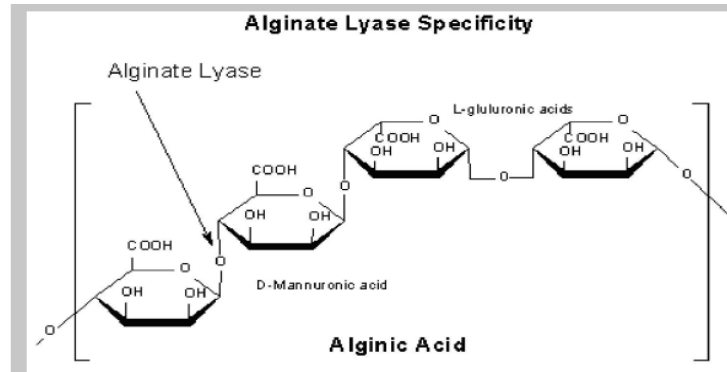
Gambar 3. Struktur kimia alginat (Winarno, 1990)

Alginat juga penghasil polisakarida yang merupakan komponen essential bagi organisme karena memiliki bioaktivitas diantaranya sebagai anti-tumor, antioksidan antivirus, imunostimulan, antikanker dan antimikroba (Setyawan *et al.*, 2020; 2021; Dousip *et al.*, 2014; Soedjati *et al.*, 2018; Fernando *et al.*, 2019; Luringunusa *et al.*, 2021; Cahyaningrum *et al.*, 2016) selain itu alginat bersifat biodegradasi karena dapat menurunkan konsentrasi tembaga secara adsorptif dari dalam air dan ammonia melalui immobilisasi bakteri (Pratama *et al.*, 2022; Setyawan *et al.*, 2022). Alginat juga digunakan pengental, pembentuk gel, stabilizer dan pengemulsi sehingga banyak digunakan di bidang makanan (Maharani *et al.*, 2018). Manfaat dari masing-masing senyawa bioaktif tersebut adalah yang mana bermanfaat sebagai antioksidan (Cahyaningrum *et al.*, 2016),).

2.3 Enzim Alginat Lyase

Alginat lyase merupakan enzim pendegradasi alginat yang didapat dari alga coklat dihasilkan dari proses degradasi alginat yakni hidrokoloid sistem koloid dipengaruhi oleh polimer organik di dalam air yang banyak di temukan di rumput laut contohnya adalah *Sargassum* sp dan *Turbinaria* sp (Subaryono, 2010). Alginat lyase diketahui memiliki potensi yang sangat besar bagi dunia obat-obatan dari jenis biokatalisis yang diproduksi oleh oligosakarida (Zang dan Kim, 2010). Enzim alginat lyase mengkatalisis oligosakarida yang dihasilkan sehingga

alginat lyase mempunyai sifat mudah larut dibandingkan alginat yang tidak didegradasi karena bioaktivitas lebih baik (Gacesa, 1992). Struktur kimia alginat lyase dapat dilihat pada Gambar 4



Gambar 4. Struktur kimia enzim alginat lyase (Winarno, 1990)

Tujuan dari pemotongan polimer tersebut agar rantai menjadi pendek dan berat molekul dari alginat lebih kecil sehingga akan lebih efektif diserap oleh tubuh karena alginat lyase akan menunjukkan aktifitasnya ketika diserap oleh darah dan selanjutnya dibawa ke tempat dimana zat itu akan memunculkan efek yang diinginkan (Subaryono, 2019)

2.4 Bakteri Pendegradasi Alginat

Alginat telah banyak dimanfaatkan baik di bidang industri maupun non industri namun pemanfaatannya yang masih terbatas akibat berat molekul yang besar maka ada beberapa cara yang digunakan untuk memecah ikatan polimer pada alginat menjadi berat molekul yang lebih kecil, yaitu metode fisik dengan iridiasi gamma ray (Wasikiewicz *et al.*, 2005), metode kimia dengan menggunakan bahan kimia yakni hidrolisis (Nainggolan *et al.*, 2021) dan metode biologi secara enzimatik oleh enzim alginat lyase (Subaryono, 2019; Wang *et al.*, 2017). Degradasi alginat secara enzimatik lebih efisien karena memiliki berat molekul yang seragam serta tidak menimbulkan perubahan struktur dan efek yang tidak diinginkan (Chang *et al.*, 2020). Proses enzimatik dilakukan dengan bantuan

mikroorganisme yakni bakteri pendegradasi alginat. Bakteri yang hidup dan berasosiasi dengan rumput laut coklat yang seringkali disebabkan oleh simbiosis yang saling menguntungkan antara kedua spesies tersebut.

Bakteri pendegradasi alginat yang bersimbion dengan alga ini memiliki kemampuan menghasilkan enzim tertentu dengan menggunakan komponen seluler alga tempat ia menempel. Oleh karena itu, beberapa spesies bakteri menunjukkan kekhususan inang karena komponen yang terkandung dalam satu inang akan berbeda dengan yang lain (Gomez *et al.*, 2010) hal ini dikarenakan bakteri berikatan dengan rumput laut untuk memanfaatkan komponen seluler yaitu alginat sebagai sumber karbon dan energi (Tavafi *et al.*, 2017). Selain itu, bakteri juga mudah dikultur, cepat tumbuh dan tidak rumit untuk meningkatkan hasil (Wang *et al.*, 2017; Subaryono, 2010). Terdapat berbagai jenis bakteri penghasil enzim alginat lyse yaitu *Bacillus halosaccharovorans* sLJ-3 (Wang *et al.*, 2017), *Bacillus Megaterium* (Subaryono, 2019), *Streptomyces* (Nguyen *et al.*, 2021) dan *Pseudomonas mendocina* NK01 (Guo *et al.*, 2011).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Oktober 2022, bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat-alat dan bahan-bahan yang disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Alat-alat penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Erlenmeyer	Pencampuran larutan dan bahan, serta menyimpan media.
2.	Tabung eppendorf	Sebagai alat atau wadah sentrifugasi.
3.	Timbangan digital	Untuk menimbang bahan yang akan digunakan.
4.	Spatula	Mengambil bahan saat proses menimbang.
5.	Gelas ukur	Untuk menakar volume larutan yang digunakan.
6.	Autoklaf	Mensterilkan alat dan bahan uji.
7.	Spektrofotometer	Mengukur absorbansi uji.
8.	Toples Plastik 10L	Perendaman rumput laut.
9.	Kompor	Untuk merebus ekstrak
10.	<i>Freezer</i> (20°C)	Menyimpan sampel.
11.	Pipet tetes	Untuk menuangkan larutan.
12.	<i>Shaker</i>	Untuk menghomogenkan larutan.
13.	<i>Mikropipet</i>	Memindahkan larutan.
14.	<i>Vortex</i>	Menghomogenkan larutan.
15.	Hotplate	Menghomogenkan larutan.

Tabel 1. (Lanjutan)

No.	Alat	Kegunaan
16.	Corong kaca	Membantu proses ekstraksi dan pencampuran bahan.
17.	pH paper	Mengukur pH pada larutan.
18.	Cawan petri	Untuk tempat kultur bakteri.
19.	<i>Cooler box</i>	Untuk menyimpan sampel.
20.	Kertas cakram	Sebagai alat uji zona bening
21.	Mortar	Untuk menghancurkan atau menghaluskan bahan atau zat padat.
22.	Rak tabung reaksi	Untuk menyimpan atau menata beberapa tabung reaksi.
23.	Yellow tip	Untuk mengambil sampel larutan dengan volume sampai 200 μ l.
24.	L-glass	Untuk menyebarkan cairan di permukaan media.
25.	Kaca preparat	Membuat preparat.
26.	Cover glass	Menutup objek di kaca preparat.
27.	Tabung Reaksi	Untuk mengkultur bakteri (Cair)
28.	Kompot	Untuk memanaskan ekstrak
29.	Termometer	Untuk mengetahui suhu

Tabel 2.Bahan-bahan penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1	Rumput Laut <i>Sargassum</i> sp	Untuk menghasilkan alginat dan bakteri simbion.
2	Na_2CO_3	Untuk mendapatkan Na alginat
3	NaOH	Untuk meningkatkan pH menjadi basa
4	HCl	Untuk bahan maserasi.
5	Nutrient Agar (NA)	Untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri.
6	<i>Cetylpyridinium chloride</i> (CPC)	Untuk pengujian zona bening bakteri
7	Nutrien Broth (NB)	Untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri (cair)
8	KCl	Digunakan untuk pemucatan
9	Akuades	Bahan pelarut untuk mencampurkan bahan-bahan kimia
10	KOH	Untuk pengujian gram
11	Parafin	Sebagai penutup uji O/F agar udara tidak masuk
12	Buffer pH 7	Untuk menyeimbangkan larutan

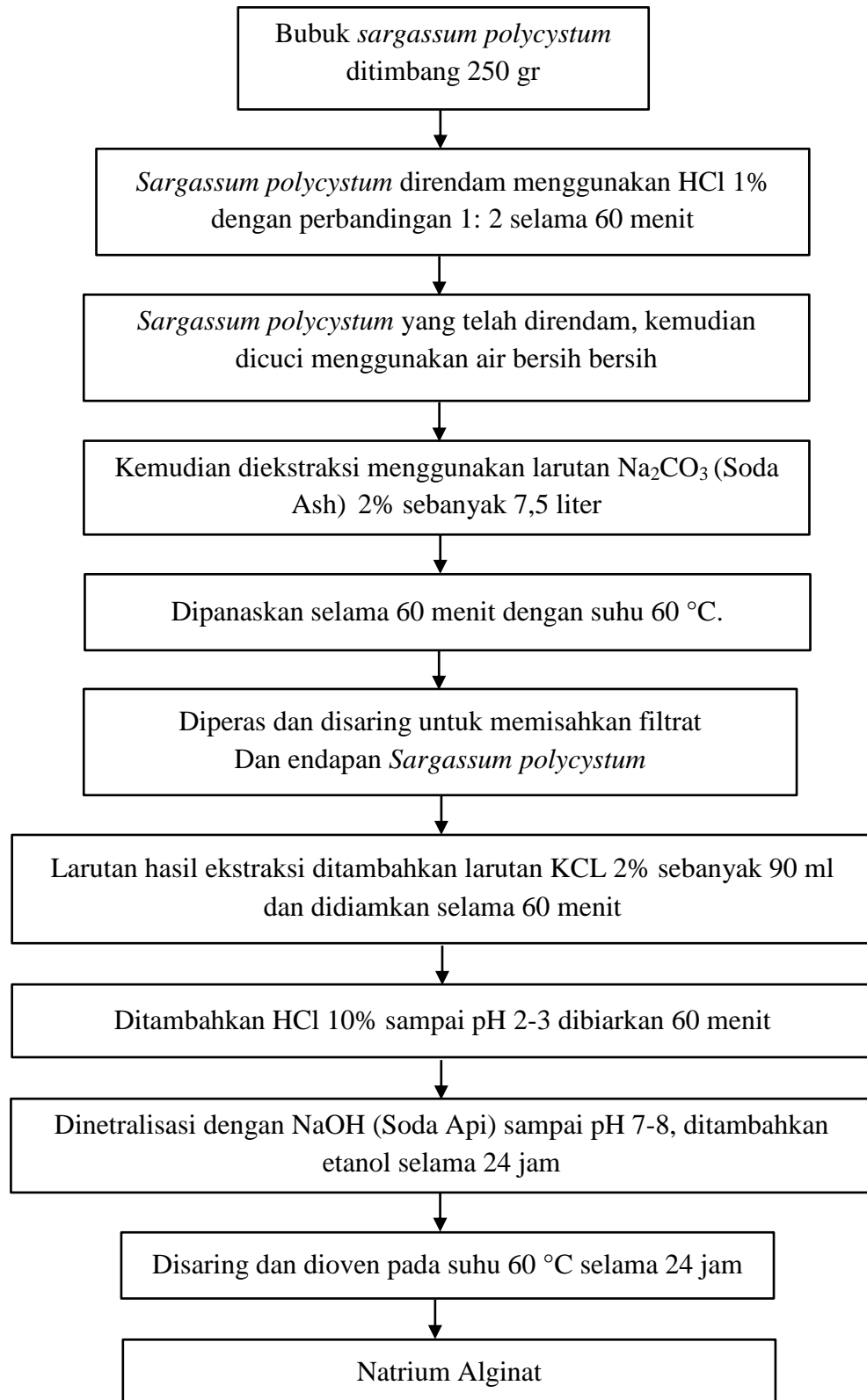
3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Koleksi Rumput Laut

Sampel rumput laut segar dikumpulkan dari lokasi Tarahan, Lampung Selatan pada Juli 2022 pada waktu air surut yakni jenis *Sargassum* sp. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam plastik sampel dan diletakkan dalam coolbox dan dibawa ke Laboratorium Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung untuk dianalisis. Rumput laut lalu dicuci dengan air tawar dan dikeringkan pada suhu ruang lalu digiling sampai berukuran seperti tepung. Tepung rumput laut disimpan pada tempat yang aman dan tidak lembab.

3.3.2 Ekstraksi Alginat

Ekstraksi natrium alginat dari *Sargassum polycystum*. yang diperoleh dilakukan dengan cara sampel *Sargassum polycystum* sebanyak 250 g. direndam dengan menggunakan HCl 1% (1:2) selama 60 menit, selanjutnya dibilas sebanyak 2 kali dengan air bersih. Sampel tersebut, kemudian diekstraksi menggunakan Na_2CO_3 (Soda Ash) dengan konsentrasi 2% sebanyak 7,5 liter dan dipanaskan menggunakan waterbath selama 60 menit dengan suhu 60°C. Sampel yang telah dipanaskan, kemudian diperas dan disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat, kemudian ditambahkan larutan KCl 2% sebanyak 90 ml selama 60 menit. Filtrat ditambahkan HCl 10% sampai pH 2-3 dan didiamkan selama 60 menit. Filtrat yang diperoleh, kemudian dinetralisasi menggunakan NaOH (Soda Api) sampai tercapai pH 7-8 dan diaduk sampai homogen. Hasil netralisasi, kemudian ditambahkan etanol untuk membentuk gumpalan natrium alginat dan ditunggu selama 24 jam, kemudian dipisahkan gumpalan natrium alginat yang terbentuk dengan menggunakan saringan kasar (kain). Hasil gumpalan yang tersaring, kemudian dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam



Gambar 5. Diagram alir ekstraksi natrium alginat pada *Sargassum polycystum*

3.3.3 *Fourier Transform Infra Red (FTIR)*

Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) dilakukan untuk menentukan gugus fungsi alginat kemudian direkam oleh spektrum infra merah pada rentang bilangan gelombang 4.000-500 cm^{-1} . Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisiian cahaya yang melewati sampel lalu melewati sampel dan kemudian pengukuran intensitas cahaya dengan detector. (Sulistiyani dan Huda, 2018).

3.3.4 *Isolasi Bakteri Simbion pada Sargassum polycystum*

Metode isolasi bakteri simbion pada *Sargassum polycystum* dilakukan dengan 2 metode yakni *Spread Plate Method* dan *Streak Plate Method* yang dimodifikasi dari penelitian Subaryono (2019) dan Sawant *et al*, (2015). Metode *Spread Plate Method* atau disebut juga pengenceran dilakukan dengan cara thalus *Sargassum polycystum* dibilas dengan menggunakan air laut steril pada cawan petri steril. Setelah itu thalus *Sargassum polycystum* dipotong, kemudian digerus menggunakan mortar dan diambil 1 g. Pengenceran sampel dilakukan dengan menggunakan air laut steril agar mendapatkan koloni bebas. Pengenceran dilakukan secara bertingkat yakni dari 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} selanjutnya diambil 150 μl sampel hasil pengenceran dan masing-masing dituang di atas media NA (*nutrien agar*) dan disebarakan menggunakan L-glass.

Metode *Spread Plate Method* semua bagian thalus dilakukan dengan cara semua bagian *Sargassum polycystum* baik daun maupun batang dibilas dengan menggunakan air laut steril pada cawan petri steril. Setelah itu *Sargassum polycystum* dipotong, kemudian digerus menggunakan mortar dan diambil 1 g. Pengenceran sampel dilakukan dengan menggunakan air laut steril agar mendapatkan koloni bebas. Pengenceran dilakukan secara bertingkat yakni dari 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} selanjutnya diambil 150 μl sampel hasil pengenceran dan masing-masing dituang di atas media NA (*nutrien agar*) dan disebarakan menggunakan L-glass.

Metode *Streak Plate Method* yang sering disebut dengan gores sebar dilakukan dengan cara thalus *Sargasssum polysyctum* dibilas dengan menggunakan air laut steril pada cawan petri steril, kemudian thalus *Sargasssum polysyctum* dipotong dan di gores di media NA. Hasil isolasi, kemudian di inkubasi pada suhu 30 °C selama 72 jam. Koloni bakteri yang tumbuh, kemudian diisolasi kembali pada media baru dengan komposisi yang sama dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C sampai mendapat isolat murni.

3.3.5 Uji Aktivitas Enzim Alginat Lyase

3.3.5.1 Kualitatif

Penentuan aktivitas enzim alginat lyase diawali dengan dengan melihat zona bening pada uji kualitatif. Uji aktivitas alginat lyase secara kualitatif dengan cara media bakteri yang telah dikultur selama 24 jam di media miring, kemudian diberi larutan 0,9 % NaCl sebanyak 3 ml lalu di kocok pelan sampai bakteri larut dalam NaCl. Sebanyak 100 µl bakteri dikultur pada media Nutrien Agar (NA) yang mengandung 1 mg/ml natrium alginat didiamkan selama 30 menit sampai meresap pada media NA. Kertas cakram yang sudah diberi larutan CPC (*Cetylpyridinium chloride*), kemudian di tempelkan di media NA yang sudah disebar bakteri. Inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Terbentuknya zona bening disekeliling bakteri menunjukkan adanya aktivitas alginat lyase. (Sawant *etl al.*, 2015; Subaryono, 2019)

3.3.5.2 Semi Kuantitatif

Uji aktivitas alginat lyase semi kuantitatif dilakukan seperti halnya uji kualitatif namun dilakukan dengan 3 kali ulangan. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya dengan rumus indeks aktivitas sebagai berikut:

$$\text{Indeks Aktivitas Alginolitik} = \frac{(\text{Ø Zona Bening} - \text{Ø Koloni Bakteri})}{\text{Ø Koloni Bakteri}} \quad 100\%$$

(Subaryono, 2019)

3.3.5.3 Kuantitatif

Isolat bakteri yang memiliki indeks aktivitas alginat lyase, kemudian di produksi enzim kasarnya dengan mengikuti penelitian Subaryono, 2019. Sebanyak 1 ose bakteri diambil dari stok isolat, kemudian dikultur dalam 5 ml media NB (*Nutrien broth*) dan kemudian di inkubasi kembali selama 24 jam. Sebanyak 80 µl bakteri dikultur pada 80 ml media NB yang diberikan tambahan alginat 5 mg/ml dan inkubasi dalam shaker inkubasi dilakukan dengan shaking pada kecepatan 150 rpm selama 24, 48, 72 dan 96 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya hasil kultur dari berbagai waktu inkubasi tersebut disentrifugasi dengan cara 20 ml hasil kultur dimasukkan dalam tabung falcon pada kecepatan 10000 x g selama 20 menit. Hasil filtrat dipisahkan dari endapan dan filtrat dilakukan uji aktivitas alginat liase secara kuantitatif serta uji kadar protein.

a. Kuantitatif Metode DNS

Pengujian aktivitas alginat lyase didasarkan pada peningkatan jumlah gula pereduksi dalam sampel sebagai akibat peningkatan oligomer hasil pemotongan alginat dengan metode DNS (*Dinitrosalisilic Acid*) yang mana merupakan reagen asam 3,5- dinitrosalisilat dengan cara larutan NaOH 2% sebanyak 50 ml ditambahkan DNS 1 g dan distirer sampai larut. Ditambahkan fenol 0,2 g dan distirer lagi sampai larut. Na bisulfit ditambahkan sebanyak 0,05 g dan distirer sampai larut,, kemudian ditambahkan K-Na tartrat 20 g dan distirer sampai larut. Larutan diencerkan hingga 100 ml dengan aquades. Pembuatan kurva standar menggunakan standar gula pereduksi D-manosa pada konsentrasi 100-900 ppm yakni dengan cara menimbang gula D-manosa sebanyak 0,1 g dalam 100 ml aquades yang digunakan untuk larutan stok 1000 ppm. Larutan stok, kemudian dibuat deret larutan standar yakni 100, 300, 500, 700, 900 ppm, kemudian diambil sebanyak 1 ml larutan standar ditambahkan 1,5 ml pereaksi DNS (3,5 *dinitrisalicylic acid*). Hasil campuran tersebut, kemudian divortex dan diinkubasi pada air mendidih selama 5 menit, kemudian di dinginkan pada suhu ruang. Setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan dan pembacaan absorbansi menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm. Hasil absorbansi yang telah didapatkan, kemudian dihitung regresi menggunakan Microsoft Excel.

Pengujian aktivitas alginat lyase secara kuantitatif dilakukan dengan menyiapkan 7 tabung reaksi dengan masing-masing 1 tabung blanko, 3 tabung sampel dan 3 tabung kontrol. Tabung blanko terdiri dari 0,4 ml alginat 1%, ditambahkan 0,1 ml aquades, kemudian ditambah 1,5 ml pereagen DNS dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit, kemudian blanko di dinginkan pada suhu ruang. Tabung sampel terdiri dari 0,4 mL enzim kasar (filtrat) ditambah dengan 0,1 ml alginat 1% dan ditambahkan 0,5 ml buffer universal pH 7 inkubasi sampel pada suhu 45 °C selama 30 menit, kemudian ditambah dengan 1,5 ml pereagen DNS dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Tabung kontrol terdiri dari 0,4 mL enzim kasar (filtrat) ditambah dengan 0,1 ml alginat 1% dan ditambahkan 0,5 ml buffer universal pH 7, kemudian ditambah dengan 1,5 ml pereagen DNS dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Masing-masing uji dilakukan sebanyak 3 kali ulangan kemudian larutan dibaca absorbansinya pada 550 nm. Aktivitas enzim yang dinyatakan satu unit enzim sebagai jumlah enzim yang melepaskan 1 µg gula pereduksi per menit.

b. Kadar Protein Metode Bradford

Pengujian kadar protein didasarkan pada gambaran kuantitas enzim yang terkandung dan berfungsi untuk menentukan satuan aktivitas enzim mengikuti penelitian Subaryono, (2019). Pembuatan kurva standar menggunakan standar BSA (*Bovine Serum Albumin*) pada konsentrasi 200-1000 ppm yakni dengan cara menimbang gula BSA sebanyak 0,1 g dalam 100 ml aquades yang digunakan untuk larutan stok 1000 ppm Larutan stok, kemudian dibuat deret larutan standar yakni 200, 400, 600, 800, 1000 ppm, kemudian diambil sebanyak 1 ml larutan standar ditambahkan 1 ml reagen bradford lalu di inkubasi pada suhu ruang selama 15 menit di tempat tertutup. Setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan dan pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 595 nm. Hasil absorbansi yang telah didapatkan, kemudian dihitung regresi menggunakan Microsoft Excel.

Analisa kadar protein dilakukan dengan cara reagent Bradford dihangatkan pada suhu kamar selama 1 jam sebelum digunakan agar suhunya normal. Kadar protein dalam sampel 24, 72, 48 dan 96 jam kemudian diukur kadar proteinnya dengan cara 1 ml reagent bradford ditambahkan pada 1 ml filtrat enzim kasar dan diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan dan pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 595 nm.

3.3.6 Identifikasi Bakteri Simbion Penghasil Alginat Lyase

Identifikasi bakteri simbion penghasil alginat lyase dilakukan dengan cara identifikasi morfologi dan biokimia yakni sebagai berikut:

3.3.6.1 Morfologi

Bakteri yang telah tumbuh pada media NA lalu diamati morfologinya secara makroskopik dengan cara melihat morfologi koloni bakteri secara langsung berdasarkan bentuk koloni (bulat, seperti akar, atau tidak beraturan), warna, ukuran, bentuk, tepian (mulus, bergelombang, bergerigi, dan filamentus), dan elevasi koloni (datar, naik, dan cembung) (Suryani dan A'yun, 2022)

3.3.6.2 Biokimia

Bakteri identifikasi secara biokimia dilakukan dengan melihat jenis baketeri apakah golongan gram negatif atau positif dengan uji gram KOH 3%, dan uji O/F (Oksidasi/ Fermentatif) untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk jenis fermentatif atau oksidatif dengan prosedur sebagai berikut:

a. Uji Gram dengan KOH 3%

Uji gram dirancang untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk dalam kelompok bakteri gram positif atau gram negatif. Uji Gram dengan KOH dilakukan dengan mencampurkan 1 ose bakteri yang berumur 24 jam pada kaca preparat lalu ditambahkan setetes KOH 3% . Bakteri yang menunjukkan golongan

gram positif terlihat saat hasil campuran tersebut menjadi terbentuk gel atau seperti lem sedangkan bakteri gram negatif tidak terbentuk gel atau seperti lem. (Riana *et al.*, 2021)

b. Uji O/F (Oksidatif/ Fermentatif)

Pembuatan media uji O/F adalah dengan menimbang media 0,94 g, kemudian ditambahkan 100 ml aquades, kemudian dihomogenkan diatas hotplate sampai larut. Media yang telah larut dimasukan dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 4 ml dan ditambah glukosa 0,1 ml, kemudian di sterilisasi menggunakan autoclaf. Uji O/F dilakukan dengan cara bakteri diinokulasi pada media oksidatif (media tanpa paraffin) dengan cara ditusukan. Selanjutnya bakteri diinkubasi selama 24-48 jam dan diamati perubahan warna yang terbentuk yakni jika kedua tabung berwarna kuning, maka isolat bakteri tersebut bersifat fermentatif namun apabila media yang tidak diberi parafin saja yang berubah menjadi warna kuning artinya bakteri tersebut bersifat oksidatif (Riana *et al.*, 2021; Fani *et al.*, 2022)

c. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase dengan cara mengambil sebanyak 1 ose isolat bakteri penghasil alginat lyse lalu dioleskan pada kaca preparat steril kemudian ditetesi satu tetes H₂O₂ 3% dan diaduk selama satu menit. Dinyatakan positif bila menghasilkan enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara yaitu dan negatif bila tidak ada gelembung udara (Riana *et al.*, 2021)

3.3.7 Sekuensing Gen dan Analisis Filogenetik

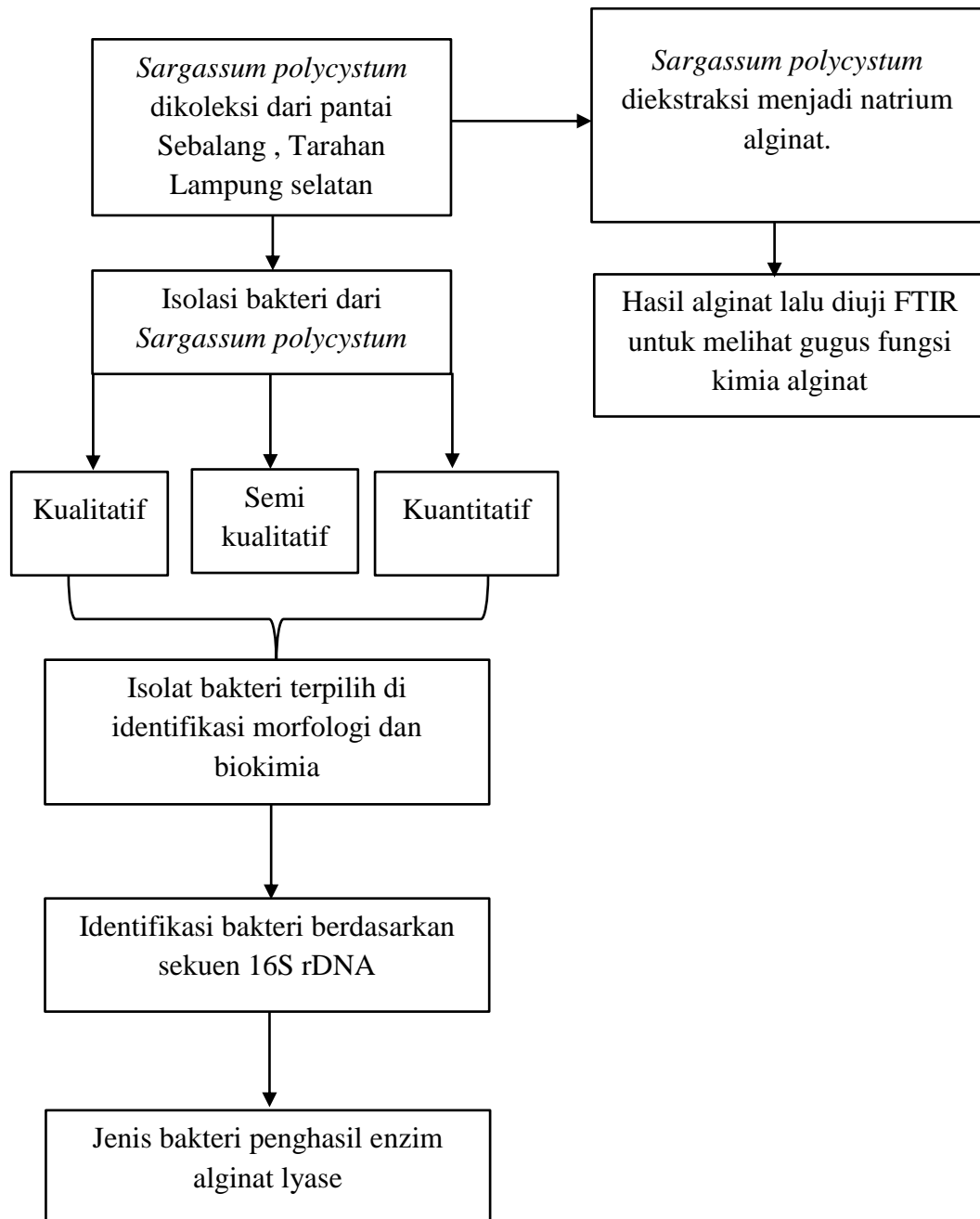
Identifikasi ini dilakukan dengan uji sekuensing gen dan analisis filogenetik 16S rDNA. Ekstraksi DNA menggunakan DNA purification kit terhadap isolat bakteri yang sudah berumur 24 jam. Primer yang digunakan amplifikasi 16S rDNA adalah fragment 27f (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3') dan 1492r (5'GGCTACCTTGTTACGACTT-3'). Sequence 16SrDNA kemudian

dibandingkan dengan multiple sequence data pada GenBank database dengan BLAST algorithm dan program CLUSTAL W. dan kemudian dibuat pohon filogenetik yang diperoleh dari program tersebut (Xue *et al.*, 2022).

3.3.8 Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian akan di analisis secara deskriptif. Data-data yang akan diperoleh pada penelitian ini yaitu hasil karakterisasi bakteri simbion secara morfologi, biokimia, dan molekuler dengan teknik 16S rDNA, uji aktivitas alginat lyase. Data aktivitas alginat lyase pada berbagai waktu inkubasi dianalisa dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji berganda Duncan. Analisa statistik dilakukan dengan bantuan software SPSS 25 pada taraf kepercayaan 95%.

3.4 Diagram Alir Penelitian



Gambar 6. Diagram alir penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah :

- a. Bakteri penghasil alginat lyase berhasil diisolasi dari rumput laut *Sargassum polycystum* yang teridentifikasi sebagai *Cytobacillus kochi* dan *Bacillus cereus*.
- b. Waktu inkubasi bakteri simbion *Sargassum polycystum* yang optimum untuk menghasilkan aktivitas alginat lyase yang tinggi adalah kisaran 48 jam sampai 72 jam.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan untuk melihat karakteristik alginat lyase dan potensi aplikasi alginat lyase khususnya untuk bakteri simbion *Sargassum polycystum* asal perairan Lampung.

DAFTAR PUSTAKA

- Afni, F., Purwaningsih, S., Nurilmala, S., dan Peranginangin, M. 2017. Produksi alginate oligosaccarides (AOS) sebagai bahan prebiotik menggunakan enzim alginat liase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(1): 109-122.
- Afriansyah, M., Kamaruddin, M., Ethica, S., dan Aprianti, N. 2021. Aktivitas anti-biofilm bakteri dari produk alga coklat *Dictyota* sp. *Jurnal Penelitian Kedokteran Dan Kesehatan*. 3(3): 89-93
- Ayunindya, A., Hendri, M., Putri, W.A., dan Hadi, R., 2021. Isolasi dan identifikasi bakteri dari rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang terkena penyakit ice-ice di teluk Lampung. *Maspri J. Mar. Sci. Res*. 13: 73-82.
- Belattmania, Z., Kaidi, S., El Atouani, S., Katif, C., Bentiss, F., Jama, C., Vasconcelos, V. 2020. Isolation and FTIR-ATR and ¹H NMR characterization of alginates from the main alginophyte species of the Atlantic Coast of Morocco. *Molecules*. 25(18): 4335.
- Bixler, H.J., Porse, H., 2011. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal Applied Phycoogyl*. 23: 321-335.
- Permatasari, A. A. A. P., Rosiana, I. W., Wiradana, P. A., Lestari, M. D., Widiastuti, N. K., Kurniawan, S. B., dan Widhiantara, I. G. 2022. Extraction and characterization of sodium alginate from three brown algae collected from Sanur Coastal Waters, Bali as biopolymer agent . *BIODIVERSITAS*. 23(3):1655-1663
- Bhaktinagara, R.A., Suprihadi,A., dan Raharjo, B. 2015. Biodegradasi senyawa hidrokarbon oleh strain *Bacillus cereus*(VIC) pada kondisi salinitas yang berbeda. *Jurnal Biologi*. 4(3): 62-71
- Cahyaningrum, K., Husni, A., dan Budhiyanti S. A. 2016. Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut cokelat (*Sargassum polycystum*). *Agritech*. 36(2):1-8.

- Cheng, D., Jiang, C., Xu, J., Liu, Z., dan Mao, X., 2020. Characteristics and applications of alginate lyases: A review. *Journal Biology Macromol.* 164: 1304-1320.
- Dalal, S. R., Hussein, M. H., El-Naggar, N. E.-A., Mostafa, S. I., dan Shaaban-Dessuuki, S. A. 2021. Characterization of alginate extracted from *Sargassum latifolium* and its use in *Chlorella vulgaris* growth promotion and riboflavin drug delivery. *Scientific Reports.* 11(1)
- Diharningrum, I. M. dan Husni, A. 2018. Metode ekstraksi jalur asam dan kalsium alginat berpengaruh pada mutu alginat rumput laut cokelat *Sargassum hystrix* *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3):532-542.
- Dousip, A., Matanjun, P., Sulaiman, M.R., Tan, T.S., Ooi, Y.B.H., dan Lim, T.P., 2014. Effect of seaweed mixture intake on plasma lipid and antioxidant profile of hypercholesterolaemic rats. *Jurnal Applied Phycology.* 26: 999-1008.
- Fernando, P. S., Kim, K. N., Kim, D., dan Jeon, Y. J.2019. Alga polysaccharides: potential bioactive substances for cosmeceutical applications. *Critical Reviews in Biotechnology.* 39: 99-113
- Firdaus, M., Chamidah, A., Nurcholis, A.R., Yulaikah, S., Anggraeni, P.Y., Suryanata, W.A., Alghafihqi, D., dan Hardiansyah, R., 2017. Effect of *Sargassum polycystum* extract on liver and kidney of diabetic rats. *Pharmaciana.* 7(2): 195.
- Firdaus, M. 2013. Indeks aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum aquifolium*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 16(1): 42-47.
- Gacesa., P. 1992. Enzymatic degradation of alginates. *International Journal of Biochemistry.* 24: 545-552.
- Gibson, G. R. dan Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition.* 125(6): 1401-1412.
- Ginting, E. L., Rangian, L., Wantania, L. L., dan Wullur, S. 2019. Isolation of symbiotic bacteria with red algae from Tongkaina waters, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah Platax.* 7(2): 394-400.
- Gomez, L. J., Mercado, I. E., Rivas, G., dan Sánchez, A. E. 2010. Antibacterial and anticancer activity of seaweeds and bacteria associated with their surface. *Revista de Biología Marina y Oceanografía.* 45(2): 267-275.
- Guo, W., Wang, Y., Song, C., Yang, C., Li, Q., Li, B., Su, W., Sun, X., Song, D., Yang, X., dan Wang, S. 2011. Complete genome of *Pseudomonas*

mendocina NK01, which synthesizes medium-chain-length polyhydroxyalkanoates and alginate oligosaccharides. *Journal Bacteriology*. 193(13):3413-3414.

Handayani, T., 2017. Potensi Makroalga di Paparan Terumbu Karang Perairan Teluk Lampung. *Oseanologi Dan Limnol. Indones*. 2: 55.

Hardiansyah, M.Y., Musa, Y., dan Jaya, A.M., 2020. Identifikasi plant growth promoting *Rhizobacteria* pada rizosfer bambu duri dengan gram KOH 3%. *Agrotechnology Research*. 4: 41-46.

Herawati, D dan Pudjiastuti, P. 2021. Effect of different solvents on the phytochemical compounds of *Sargassum* sp. from Yogyakarta and East Nusa Tenggara. *Journal of Physics. Conference Series on Science and Technology Research (ACOSTER)*.

Heristyara, R., Badruzsaufari, dan Susilawati, I.O. 2019. Efek suhu terhadap aktivitas spesifik enzim pereduksi cr(vi) oleh *Bacillus cereus* isolat ab13 dari tanah serpentinit. *Prosiding. Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*. 4(1): 157-162

Herlina, Falahudin. A., Gustian, I., Putranto. A. M. H., Adfa. M., dan Yudha. S. Membran alginat *Padina* sp. polietilen glikol (AP-PEG): preparasi, karakterisasi dan aplikasinya sebagai enkapsulan. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 17(1): 63-73

Iryanti, T., Wahab, A. W., dan Bahar, R. 2018. Potential na-alginate extract from brown algae *Sargassum* sp. of the mango maturation process. *Indonesia Chimica Acta*. 11(2)

Istiqomah, L. 2015. Isolasi dan karakteristik bakteri asam laktat penghasil fitase dari saluran pencernaan unggas serta karakteristik fitasenyanya. *Tesis*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Iwamoto, M., Kurachi, M., Nakashima, T., Kim, D., Yamaguchi, K., Oda, T., Iwamoto, Y., dan Muramatsu, T. 2005. Structure–activity relationship of Alginate oligosaccharides in the induction of cytokine production from RAW2647 cells. *FEBS Letters*. 79(20): 4423-4429.

Jagtap, A. S., Sankar, N. P. V., Ghoris, I. A, dan Manohar, C. S. 2022. Marine microbial enzymes for the production of algal oligosaccharides and its bioactive potential for application as nutritional supplements. *Folia Microbiologica*. 67: 175-191

Kamaruddin M, Marzuki I, Burhan A, dan Ahmad R. 2021 Screening acetylcholinesterase inhibitors from marine-derived actinomycetes by simple chromatography. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 679(1)

- Kamisyah, S., Sapar, A., Brilliantoro, R., dan Sayekti, E., 2020. Isolasi dan karakterisasi alginat dari rumput laut (*Sargassum polycystum*) asal perairan Singkawang Kalimantan Barat *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 8(3): 62-71
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2019. Laut Masa Depan Bangsa, Mari Jaga Bersama. <https://kkp.go.id/artikel/12981-laut-masa-depan-bangsa-mari-jaga-bersama>. Diakses pada 15 Juni 2022
- Kementrian Perdagangan. 2013. Rumput laut indonesia. Warta ekspor.1-20
- Khan, Z. H., Khan, M. A., Aftab, M., Idrees, M., dan Naeem, M. 2011. Influence of alginate oligosaccharides on growth, yield and alkaloid production of opium poppy (*Papaver somniferum* L.). *Biotechnology Letters*. 5(1): 122-127.
- Kok, J. M. L dan Wong, C. L. 2018. Physicochemical properties of edible alginate film from Malaysian *Sargassum polycystum* C. Agardh. *Sustain. Chem. Pharm.* 9: 87-94.
- Lee, S., Choi, S. H., Lee, E.Y., dan Kim, H. S. 2012. Molecular cloning, purification, and characterization of a novel polyMG-specific alginate lyase responsible for alginate MG block degradation in *Stenotrophomias maltophilia* KJ-2. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 95(6): 1643-1653.
- Luringunusa, E., Sanger, G., Harikedua, S. D., dan Mentang, F. 2021. Aktivitas antikanker serviks rumput laut *Gracilaria* sp. *Media Teknologi Hasil Perikanan*. 9(3): 116-123
- Maharani, A.A., Husni, A., dan Ekantari, N., 2018. Effect of extraction methods on characteristic of sodiuma lginate from brown seaweed *Sargassum fluitans*. *Jurnal Pengolahan Hasil perikanan Indonesia*. 20: 478.
- Marzuki, I., Kamaruddin, M., dan Ahmad, R. 2021. Identification of marine sponges-symbiotic bacteria and their application in degrading polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodiversitas*. 22(3): 1481-1488
- Mulyasari, M., Melati, I., dan Sunarno, M. T. D., 2015. Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri selulolitik dari rumput laut turbinaria sp. Dan sargassum sp. Sebagai kandidat pendegradasi serat kasar pakan ikan. *Jurnal Riset Akuakultur*. 10: 51
- Nainggolan, N., Seprianto, S., dan Kusumawati, R., 2021. Synthesis of alginate oligosaccharide (AOS) using different solvents. *Indones. Journal Biotechnology Biodiversy*. 5: 78-83.

- Nguyen, T. N. T., Chataway, T., Araujo, R., Puri, M., dan Franco, C. M. M., 2021. Purification and characterization of a novel alginate lyase from a marine *Streptomyces* species isolated from seaweed. *Marine Drugs*. 19: 590.
- Ningtias, F.F. 2022. Karakteristik natrium alginate *Sargassum* sp dari perairan Lampung. *Skripsi*. Universitas Lampung
- Ode, I. dan Wasahua J. 2014. Jenis-jenis alga coklat potensial di perairan Pantai Desa Hutumuri Pulau Ambon. *Jurnal Agribisnis Perikanan*. 7(2):39-45.
- Pansing, J., Gerung, G., Sondak, C., Wagey, B., Ompi, M., dan Kondoy, K., 2017. Morfologi *Sargassum* sp di kepulauan Raja Ampat, papua barat. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*. 5: 13.
- Pandit, P., Gayatri, T. N., dan Regubalan, B. 2019. Alginates Production, Characterization and Modification. *Alginates. Applications in the Biomedical and Food Industries*. 2: 21-44.
- Pasanda, O.S.R. dan Aziz, A. 2018. The extraction of brown algae (*Sargassum* sp.) through calcium path to produce sodium alginate. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 7(1): 109-112.
- Pasaribu, A.S., Sedjati, S., dan Pramesti, R., 2020. Analisis kualitas alginat rumput laut (*Padina* sp.) menggunakan metode ekstraksi jalur kalsium. *Journal Marine Research*. 9: 75-80.
- Patel, S., Gupta, R.S., 2020. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus species*, *Peribacillus gen. nov.*, *Cytobacillus gen. nov.*, *Mesobacillus gen. nov.*, *Neobacillus gen. nov.*, *Metabacillus gen. nov.* and *Alkalihalobacillus gen. nov.* *Int. Journal System Evolution Microbiology*. 70
- Pratama, B.S., Hambali, E., Yani, M., dan Matsue, N., 2022. Pemanfaatan film alginat dan alginat/ montmorillonite sebagai adsorben CU(II). *Jurnal Sains Dasar*. 11(2): 70-77
- Pratiwi, W.M., dan Asri, M.T., 2022. Isolasi dan identifikasi bakteri indigenous pendegradasi pestisida profenofos dan klorantraniliprol di Jombang Jawa Timur. *Lentera Bio Berkala Ilmu Biologi*. 11: 300-309.
- Rashedy, S. H., Abd El Hafez, M. S. M., Dar, M. A., Cotas, J., dan Pereira, L. 2021. Evaluation and characterization of alginate extracted from brown seaweed collected in the Red Sea. *Applied Sciences*. 11(14): 6290.

- Rasyid, A., 2003. Algae coklat (*Phaeophyta*) sebagai sumber alginat. *Oseana*. 28:1
- Rhein-Knudsen, N., Ale, M., dan Meyer, A., 2015. Seaweed hydrocolloid production: an update on enzyme assisted extraction and modification technologies. *Marine Drugs*. 13: 3340-3359
- Riana, H., Supono., dan Setyawan, A. 2021. Molecular identification and local isolate bacterial activity test as biocontrol candidates to tackle *Vibrio* spp infections at vannamei shrimp cultivation (*Litopenaeus vannamei*) in East Lampung. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 9(2): 1131-1142.
- Ridlo, A. dan Pramesti, R. 2009. Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang (*Litopennaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*. 14: 133-137.
- Saraswati, P., Nocianitri, K.A., dan Arihantana, N.M.I., 2021. Pola Pertumbuhan *Lactobacillus* sp. F213 Selama Fermentasi Pada Sari Buah Terung Belanda (*Solanum betaceum Cav.*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan ITEPA*. 10(621).
- Setyawan, A., Isnansetyo, A., Murwantoko, Indarjulianto, S., dan Handayani, C. R. 2018. Comparative immune response of dietary fucoidan from three indonesian brown algae in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *AAFL Bioflux*. 11(6): 1707-1723.
- Setyawan, A., Supono, Safitri. Y. B., Hudaidah, S., dan Fidyandini, H. P. 2020. Suplementasi kalsium alginat *Sargassum* sp. dari perairan Lampung untuk memicu respon imun *Penaeus vannamei*. *Prosiding. Semnaskan UGM XVII*, 1-4 September 2020. Universitas Gadjah Mada.
- Sinubu, W. V., Tumbol, R. A., Undap, S. L., Manoppo, H., dan Kreckhoff, R. L., 2021. Identifikasi bakteri patogen *Aeromonas* sp. pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Desa Matungkas, Kecamatan Dimembe, Kabupaten Minahasa Utara. *Jurnal Budidaya Perairan*. 10: 109.
- Sinurat, E., dan Marliani, R. 2017. Karakteristik natrium alginat dari rumput laut coklat *Sargassum crassifolium* dengan perbedaan alat penyaring. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 351-361
- Sirri, Y., Warouw, V., Rumengan, I.F., Paransa, D.S., Undap, S.L., dan Ginting, E.L., 2022. Isolation and Antibacterial Activity assay of Endophytic Symbiont Bacteria on Seaweed *Gracilaria verrucosa* originated from Batu Meja Tongkaina Beach, North Sulawesi. *Jurnal Imiah PLATAX*. 10: 424.

- Soedjati, S., Supriyatini, E., Ridlo, A., Soerdjo, N., dan Santi, V. Y. 2018. Kandungan pigmen, total fenolik dan aktivitas antioksidan *Sargassum* sp. *Jurnal Kelautan Tropis*. 21(2): 137-144.
- Subaryono, 2010. Modifikasi Alginat dan Pemanfaatan Produknya. *Squalen*. 5(1): 1-7.
- Subaryono. 2019. Produksi enzimatik oligosakarida alginat (OSA) dari rumput laut *Sargassum crassifolium* dan aktivitas imunomodulatornya. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor.
- Subaryono., Perangiangan, R , Suhartono, M. T., dan Zakaria, F. R. 2017. Aktivitas imunomodulator oligosakarida alginat (OSA) yang dihasilkan dari alginat asal *Sargassum crassifolium*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(21): 1-11.
- Subaryono., Peranginnangin, R., Suhartono, M. T., dan Zakaria. F. R. 2013. Alginate lyases: sources, mechanism of activity and potencial application. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology* 8(3): 105-116.
- Sulistiyani, M., dan Huda, N. 2018. Perbandingan metode transmisi dan reflektansi pada pengukuran polistirena menggunakan instrumentasi spektroskopi fourier transform infrared. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 7(2)
- Suryani, S dan A'yun, Q. 2022. Isolasi bakteri endofit dari mangrove *Sonneratia alba* asal pondok 2 pantai Harapan Jaya Muara Gebong, Bekasi. *Bio sains: jurnal ilmiah biologi*. 1(2)
- Tavafi, H., Abdi-Ali, A., Ghadam, P., dan Gharavi S. 2017. Screening of alginate Lyase-Producing bacteria and optimization of media compositions for extracellular alginate Lyase production. *Iran Biomed Journal*. 21(1): 48-56.
- Tripathi, S., Yadav, S., Sharma, P., Purchase, D., Syed, A., dan Chandra, R. 2022. Plant growth promoting strain *Bacillus cereus* (RCS-4 MZ520573.1) enhances phytoremediation potential of *Cynodon dactylon* L. in distillery sludge. *Environmental Research*. 208: 112-709
- Wang M, Chen L, Liu Z, Zhang Z, Qin S, Yan P. 2016. Isolation of a novel alginate lyase-producing *Bacillus litoralis* strain and its potential to ferment *Sargassum horneri* for biofertilizer. *MicrobiologyOpen*. 5(6): 1038-1049.
- Wang, M, Chen, L, Zhang, Z., Wang, X., Qin, dan Yan, P. 2017. Screening of alginate lyase-excreting microorganisms from the surface of brown algae. *AMB Expr*. 7:74.

- Wasikiewicz, J. M., Yoshii, F., Nagasawa, N., Wach, R. A., dan Mitomo, H. 2005.. Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods. *Radiation Physics and Chemistry*. 73(5): 287-295
- Widyartini, D. S., Insan, A. L., dan Sulistyani, S. 2015. Kandungan alginat *Sargassum* budidaya dan umur tanam berbeda. *A Scientific Jurnal*. 32(2).
- Wong, T. Y., Preston, L. A., dan Shiller, N. L. 2000. Alginate lyase: review of major sources and enzyme characteristics, structure-function analysis, biological roles, and applications. *Annual Review of Microbiology*. 54. 289-340.
- Xue, Z., Sun, X. M., Chen, C., Zhang, X.Y, Chen, X.L., Zhang, Y.Z., Fan, S. J., dan Xu, F. A. 2022. Novel alginate lyase: identification, characterization, and potential application in alginate trisaccharide preparation. *Marine Drugs*. 20: 159.
- Yudiati, E. 2016. Ekspresi gen dan laju sintasan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang tersuplementasi dengan alginat secara oral untuk resistensi penyakit white spot syndrome virus. *Buletin Oseanografi Marina*. 5(2): 135-142
- Yudiati, E., Isnansetyo, A., Murwantoko, Triyanto, dan Handayani, C. R. 2019. Alginate from *Sargassum siliquosum* simultaneously stimulates innate immunity, upregulates immune genes, and enhances resistance of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Against white spot syndrome virus (WSSV). *Marine Biotechnology*. 21(4): 503-514
- Yudiati, E., Isnansetyo, A., Murwantoko., Triyanto., Ayuningtyas., dan Handayani, C. R. 2016. Innate immune-stimulating and immune genes upregulating activities of three types of alginate from *Sargassum siliquosum* in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish dan Shellfish Immunology*. 54: 46-53
- Yusriyyah, A. A. 2021. Studi enzim karagenase pada bakteri yang bersimbiosis dengan rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. *Tesis*. Universitas Hasanudin. Makasar
- Zelvi, M., Suryani, A., dan Setyaningsih, D. 2017. Hidrolisis euclidean cottonii dengan enzim k-karagenase dalam menghasilkan gula reduksi untuk produksi bioetanol. *Journal Teknologi Industri Pertanian*. 27: 33-42.
- Zhang C, dan Kim, S. K. 2010. Research and application of marine microbial enzymes: Status and prospects. *Marine Drugs*. 8(6): 1920-1934